

の TATA 配列は構成的発現に関与するもの ( $T_c$ ) と誘導的発現に関与するもの ( $T_R$ ) の 2 種類に区別できることが、HIS 3 や TRP 1 プロモーターで報告されている<sup>2,3)</sup>。例えば HIS 3 遺伝子では、 $T_c$  は I の上流 45~83 bp の領域に数個存在し、上流調節配列のうちポリ dA-dT 配列と関連して機能しているのに対し、 $T_R$  は I の上流 35~45 bp の間に 1 個だけ存在し、アミノ酸欠乏条件下での誘導的発現に UAS と関連して機能している<sup>2)</sup> (図 3.1 参照)。

I site は TATA 配列と連携して転写開始点(I)を規定している領域であり、特異な配列を持っている場合が多い。酵母の I site を幅広く調査した結果、多くの場合、RRYRR (R:プリン, Y:ピリミジン) または TC (G/A) A の共通配列を含むことが指摘されている<sup>4)</sup>。このうち RRYRR の I site はその上流の構成要素とは独立に機能しているらしい。このことは HIS 3 と DED 1 プロモーターで、おのおの、UAS および TATA を含む領域と I site およびその下流の RNA コード領域とをお互いに交換した雑種プロモーターを作製したところ、転写開始点のパターンは、その上流領域の種類には影響されず下流に融合した I site が元の遺伝子で示すパターンと一致するという実験結果から明らかにされた<sup>5)</sup>。

上流調節配列のうち、ポリ dA-dT 配列は“ねじれ”(kink) または“折れ曲がり”(bend)の構造をとりやすいことから<sup>6,7)</sup>、ヌクレオソームを除去してクロマチンの構造を変えることにより、転写レベルを活性化していると考えられている<sup>8,9)</sup>。一方、UAS または URS には、RNA ポリメラーゼ II による転写を調節する機能を持った調節蛋白質が、その DNA 配列を特異的に認識して結合することが多くの遺伝子で明らかにされてきた<sup>10)</sup>。このうち、一部の調節蛋白質ではその遺伝子も単離され、発現調節機能が分子レベルで解析されている。

以下では、誘導的発現遺伝子と構成的発現遺伝子の調節機構を、異種遺伝子の発現にもよく利用されるガラクトース代謝系遺伝子と解糖系遺伝子を例にして述べる。

### 3.1.1 ガラクトース代謝系遺伝子の発現調節

ガラクトース代謝系酵素をコードする遺伝子 GAL 1, GAL 10, GAL 7 (お

のおのキナーゼ, エピメラーゼ, トランスフェラーゼをコードし, 酵母の第 II 染色体上に密接に関連している) およびガラクトース膜透過酵素パーミアーゼをコードする GAL 2 (第 XII 染色体上にある) の mRNA への転写は, 培地の炭素源としてグルコースを用いるときには抑制され, ガラクトースを用いるときには誘導される<sup>11,12)</sup>. その転写調節はガラクトース代謝系遺伝子のプロモーター領域に共通して存在する 17 bp の上流活性化配列 UASg と調節蛋白質 GAL 4 との相互作用が基本となっている. GAL 4 蛋白質はガラクトースのない条件下では転写を抑制する別の調節蛋白質 GAL 80 と結合しており, その転写活性化作用は抑制されている. しかし, 培地中にガラクトースが加えられると, 細胞内に取込まれて GAL 80 蛋白質と結合することにより, GAL 80 と GAL 4 蛋白質との複合体が解離する. 遊離した GAL 4 蛋白質は UASg に結合するだけでなく, 他の構成要素である TATA 配列結合蛋白質や RNA ポリメラーゼとも相互作用することにより, 転写を活性化すると考えられる<sup>13)</sup>.

したがって, GAL 4 蛋白質は, 1) プロモーター領域の特定配列 UASg を認識して結合する, 2) UASg との結合によりその下流の遺伝子の転写を活性化する, 3) GAL 80 蛋白質と相互作用することにより転写の活性化を抑制するという 3 つの異なる機能を担っている.

GAL 4 遺伝子は酵母内で恒常的に発現しているが, その発現レベルは低く抑えられている. そこで, GAL 4 遺伝子のプロモーター領域を高発現のアルコールデヒドロゲナーゼ (ADH1) 遺伝子のものと置換えて GAL 4 蛋白質を大量に発現させ, UAS 配列の異なる遺伝子の転写が調べられた. その結果, UASg を持つプロモーターの転写は GAL 4 蛋白質の大量発現に依存して誘導されたが, GAL 4 蛋白質が結合しない UAS を持つプロモーターの発現量は逆に減少した. この GAL 4 蛋白質非依存性プロモーターにおける転写抑制効果は, GAL 4 蛋白質の種々の欠失変異体のうち転写の活性化ドメインを持っているものに特異的であり, DNA 結合ドメインの有無とは無関係であった<sup>14)</sup>. このことは, UAS による転写の活性化は UAS に結合した調節蛋白質と TATA 結合蛋白質や RNA ポリメラーゼなど他の転写因子との相互作用により起こされるものであり, GAL 4 蛋白質の結合しないプロモーターでは, GAL 4 蛋白質の大量発現によりこの相互作用が競争的に阻害される結果であると解

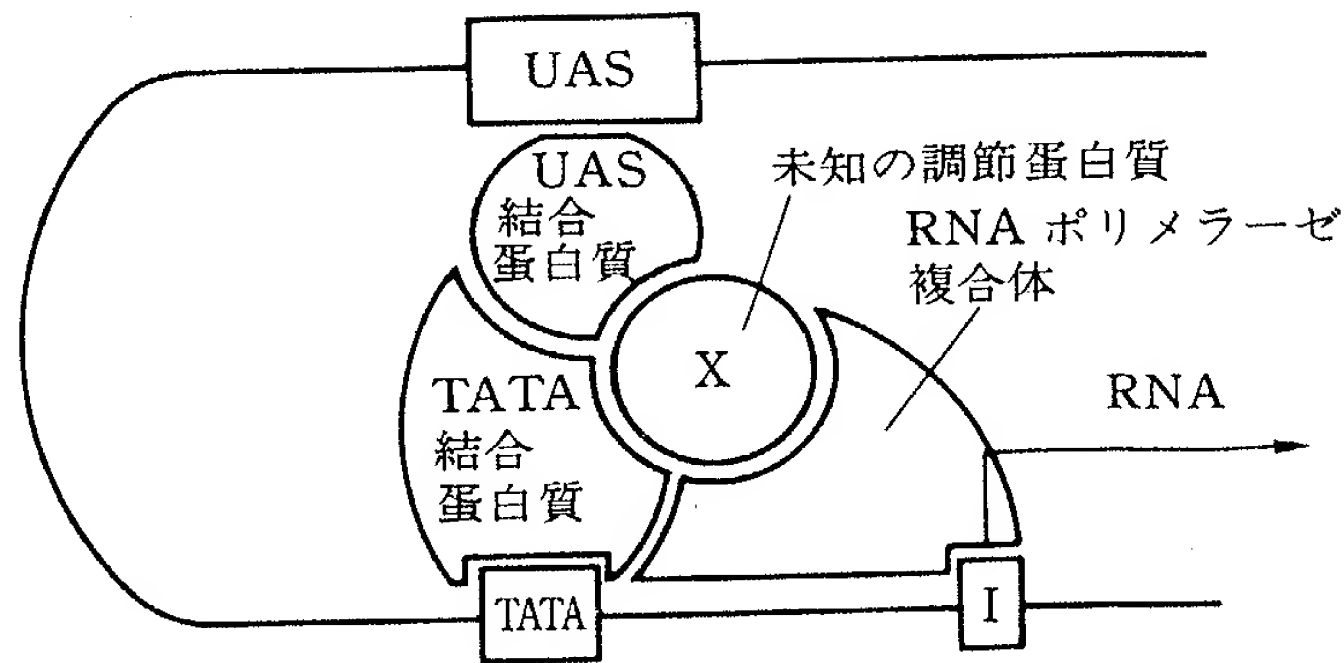


図 3.2 転写に関与する蛋白質の相互作用 (模式図)

釈できる。

このような、UAS 結合蛋白質の大量発現により UAS を持たない別の遺伝子の転写が抑制される現象は“スケルチング”とよばれている<sup>14)</sup>。この競争的阻害は調節蛋白質の転写活性化ドメインに存在する酸性アミノ酸に富む領域が他の転写因子と相互作用することによって引き起こされるが、その詳細はまだ不明である。

以上のように、酵母における転写の調節機構もしだいに明らかになってきたが、UAS がなぜ転写開始点 (I) よりはるかに上流に位置しており、空間的に遠い位置からどのようにして転写を調節するのかといった疑問は、依然として解明されていない。現在考えられているモデルは、DNA が折れ曲がってループを形成することにより、UAS に結合した調節蛋白質と転写開始点近傍に結合した TATA 結合蛋白質や RNA ポリメラーゼなど他の転写因子とが相互作用できるようになるというものである<sup>15)</sup> (この際、中間に未知の調節蛋白質 X が介在する可能性もある、図 3.2) が、今後さらに詳しい分子機構の解明が期待されている。

### 3.1.2 解糖系遺伝子の発現調節機構

誘導的に発現する遺伝子は特殊な環境に適応するために獲得された遺伝子であり、進化の過程で比較的后期に導入されたもので酵母の生育にとって必須でない場合が多い。一方、生育に必須な遺伝子 (例えば、解糖系遺伝子やリボソーム蛋白質遺伝子) は、進化の過程でごく初期に構築されたと思われ